

**(19) Japan Patent Office (JP)**

**(12) Publication of Patent Application (A)**

**(11) Publication Number of Patent Application: JP-A-2003-83965 (P2003-83965A)**

**(43) Date of Publication of Application: March 19, 2003**

**(54) [TITLE OF THE INVENTION] A CHIP FOR PROTEIN/NUCLEIC ACID ANALYSIS**

**(57) [ABSTRACT]**

**[PROBLEM]**

As means for analyzing protein/nucleic acid by extracting nucleic acid from a specimen, the PCR method and the like are known. But, comparatively bulky apparatuses and peripheral members are required for such analysis, which fact is inefficient and uneconomical in consideration of an extremely small quantity of the specimen. The present invention aims to provide an efficient and economical chip for protein/nucleic acid analysis.

**[MEANS FOR SOLVING THE PROBLEM]**

The problem has been solved by completing an analyzing chip capable of continuously conducting a series of operations including nucleic acid amplification to inspection with use of a functionalized product resulting from the fabrication of configurations such as of minute depressions, grooves, etc. in one surface of a solid, planar, workable piece such as glass or silicon plates, etc.

**[CLAIMS]**

**[CLAIM 1]** A chip for protein/nucleic acid analysis provided with multi-functions for simultaneously or sequentially conducting the single operational step or the plural operational steps required for the analysis of protein/nucleic acid with use of a part resulting from the fabrication of configurations such as minute depressions, grooves, etc. in one surface of a solid, planar, workable piece and functionalizing said configurations.

**[CLAIM 2]** The chip for protein/nucleic acid analysis set forth in Claim 1 characterized by being provided with multi-functions for selectively or variously conducting the single operational step or the plural operational steps required for the analysis of protein/nucleic acid.

**[CLAIM 3]** The chip for protein/nucleic acid analysis set forth in Claim 1 characterized by being provided with the multi-functions for conducting the transfer of the specimen between individual steps by means of a valve in selecting or changing the single or plural operational steps required for protein/nucleic acid analysis.

**[CLAIM 4]** The chip for protein/nucleic acid analysis characterized by being provided with the function of carrying out the switching of the valve set forth in the foregoing Claim 3 by making use of the property of a material that changes its shape with temperature whereby the specimen is allowed to pass when the valve is heated while the specimen is blocked when the valve is cooled.

**[CLAIM 5]** The chip for protein/nucleic acid analysis characterized by being provided with a heating function in non-contact mode with use of a thermal beam source as a heating method and the cooling function in contact mode as a cooling method for the purpose of the valve switching set forth in the foregoing Claim 4.

**[CLAIM 6]** The chip for protein/nucleic acid analysis set forth in Claim 1 characterized by being provided with the heating function in non-contact mode with use

of a thermal beam source as the heating method for the functionalized part for the PCR method and the cooling function in contact mode as the cooling method for the functionalized part for the PCR method, respectively, in an analyzing chip provided with multi-functions for selectively or variously conducting the single operational step or the plural operational steps required for the analysis of protein/nucleic acid.

[CLAIM 7]       The chip for protein/nucleic acid analysis set forth in Claim 1 characterized by being provided with the function of detecting a singular nucleic acid sequence during electrophoresis by fixing a single probe or plural probes for detecting a singular nucleic acid sequence in a functionalized part for electrophoresis in an analyzing chip provided with the multi-functions for selectively or variously conducting the single operational step or the plural operational steps required for the analysis of protein/nucleic acid.

[CLAIM 8]       The chip for protein/nucleic acid analysis set forth in Claim 1 characterized by being provided with the function of detecting a singular nucleic acid sequence by fixing a single probe or plural probes for detecting a singular nucleic acid sequence in a groove filled with a hybridization buffer solution in an analyzing chip provided with the multi-functions for selectively or variously conducting the single operational step or the plural operational steps required for the analysis of protein/nucleic acid.

[CLAIM 9]       The chip for protein/nucleic acid analysis set forth in Claim 7 or 8 characterized by being provided with the function of judging nucleic acid information by arranging a single groove or plural grooves which carry out electrophoresis or hybridization and are fixed with a single probe or plural probes for nucleic acid detection and patternizing the positional information of the detected nucleic acid in an analyzing chip provided with the multi-functions for selectively or variously conducting the single

operational step or the plural operational steps required for the analysis of protein/nucleic acid.

**[DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION]**

**[0001]**

**[FIELD OF THE INVENTION]**

**[TECHNICAL FIELD TO WHICH THE INVENTION BELONGS]**

The present invention relates to a chip for protein/nucleic acid analysis which can conducts the steps required for the analysis of protein/nucleic acid efficiently, economically and easily.

**[0002]**

**[PRIOR ART]**

**[CONVENTIONAL TECHNOLOGY]**

Conventionally, for the analysis of protein/nucleic acid, comparatively bulky apparatuses and peripheral members have been required in many cases, which fact could not escape the charges of inefficiency and waste of money in consideration of an extremely small quantity of the specimen.

**[0003]**

For example, in the case of the PCR method now extensively used for nucleic acid amplification, one copy of a gene is enough for analysis in principle, but due to the use of a tube in a PCR apparatus, a large quantity of reagent is inevitably required, resulting in a large use amount of nucleic acid. As a matter of course, the electric power consumption for the operation of the apparatus increases, too.

**[0004]**

For electrophoresis, in particular in cases of sequence analysis, a gel plate of several ten cm is used requiring a voltage as high as 3000 V. But by taking into account

that the sample is only 1 µg or less of nucleic acid, such an analyzing method is inevitably blamed as an inefficient and uneconomical one.

[0005]

To cope with the above-cited shortcoming, a new nucleic acid inspection method is devised using fine working techniques represented by DNA chips or nano-sequencers. Such method is now in advance as an examination method with which an extremely small amount of specimen is analyzed efficiently and economically.

[0006]

#### **[PROBLEMS THAT THE INVENTION IS TO SOLVE]**

However, micro sample analyzing apparatuses such as the DNA chip, etc. which have been developed so far are mono-functional, and lack in the ability of performing gene analysis comprehensively and efficiently. Due to such a fact, for gene inspection in which analytical results are obtained through a series of steps, a conventional type apparatus must be used in one of those steps, resulting in an inefficient and uneconomical inspection method.

[0007]

For example, in the case of gene analysis according to the PCR method, the analysis consists of roughly four steps; (1) nucleic acid extraction from a specimen, (2) nucleic acid amplification by the PCR method, (3) electrophoresis of the product of the nucleic acid amplification and (4) nucleic acid detection through dyeing. And, since an independent apparatus is used for each step, and the specimen must be transferred therebetween, a continuous operation does not hold. To achieve an efficient and economical inspection, it is necessary to miniaturize all of these steps and impart continuity among the steps.

[0008]

#### **[MEANS TO SOLVE THE PROBLEMS]**

By devoting himself to researching in consideration of such circumstances, the inventor has arrived at the innovative invention in which the analysis in concern is practiced only with a single small-size apparatus with use of small amounts of reagent S as well as the specimen in a short time, as a result of conducting the above-cited operations in a continuous manner on miniaturized analyzing chips.

**[0009]**

The features of the present invention lie in designing and fabricating a chip for protein/nucleic acid analysis by;

(1) providing one surface of a solid, light-transmitting planar piece which can be subjected to various processings such as surface working, sterilizing treatment, washing, etc., with various configurations such as a minute depression, groove, etc., (2) functionalizing these configurations and imparting continuity as parts, (3) arranging for each part a valve mechanism that is switched (opened or closed) by heating or cooling, and (4) carrying out temperature control of the functional parts and valves by adopting non-contact heating for the heating method and contact cooling for the cooling method.

**[0010]**

In case where an analyzing chip is prepared by functionalizing the configurations such as a depression, groove, etc. provided on the surface of a solid planar piece, the heat source for heating a functional part such as a PCR tank, an electrophoresis groove, a buffer solution tank, etc. in non-contact manner may be a laser beam, an infrared or far infrared ray. But, the heat source is not limited to them, but any one may be adopted that can heat only a part in concern or a valve in a non-contact manner in a short time. Further, as the means for rapidly cooling a part in concern or a valve in a contact manner, the electronic device making use of the Peltier effect, which

causes heat generation or absorption at the contact plane of two kinds of metal or semi-conductor through which an electric current is allowed to flow, is appropriately used.

[0011]

In order to achieve switching of valve on the analytical chip via temperature change, it is suited to use a shape memory alloy such as Ni-Ti, Cu-Ti, etc. which undergoes a phase change from martensite phase to austenite phase when heated to a certain temperature or higher and can restore the shape before the change, or a shape memory polymer, etc. each of which has a property of returning to an original shape by losing a certain shape change caused by an external force when subjected to a heat treatment, etc.

[0012]

A still further feature of the present invention is the capability of detecting a specific nucleic acid in concern at a specific position by virtue of fixing a single probe or plural specific probes for nucleic acid detection in an analytical chip, and of easily estimating the property of nucleic acid from that positional pattern.

[0013]

#### [MODE FOR CARRYING OUT THE INVENTION]

One example of the principle for the present invention is explained by using a drawing as follows. By way of precaution, though the present example shows a method of conducting PCR, electrophoresis, hybridization and fluorescence nucleic acid detection by using a single chip, the present invention is not limited to the example.

[0014]

In Fig. 1, first of all, a specimen (nucleic acid) is injected into a PCR tank configured on an analytical chip together with a PCR reacting solution. This tank is

heated in non-contact manner by means of a thermal beam source arranged at the top, and cooled with a cooling heat exchanger which is arranged at the bottom and not in contact with the tank except when used for cooling. The specimen in the PCR tank undergoes the PCR reaction by the repetition of an appropriate heating and cooling cycle to amplify nucleic acid.

[0015]

After the termination of the PCR reaction, the thermal beam source heats the valve attached to the PCR tank to open the valve whereby the amplified nucleic acid product in the PCR tank now can move to an electrophoresis groove. The valve is made of a shape memory alloy or polymer material which deform upon heating, and allows the nucleic acid product to pass therethrough upon heating.

[0016]

By flowing an electric current to the electrode, after the passage through the valve becomes possible, the nucleic acid begins to move from the PCR tank to the buffer solution tank via the electrophoresis groove. The electrophoresis groove may be filled beforehand with agar or a polymeric compound, but still other resistive material may also be used. By the presence of such a resistive material, impurities such as protein, etc. present in the PCR reacting solution are separated during electrophoresis. In addition, the electrophoresis groove may be filled with a buffer solution.

[0017]

When a hybridization reaction with the nucleic acid detecting probe fixed at the groove takes place during the transfer of nucleic acid through the electrophoresis groove, the nucleic acid is caught by the probe to form a double-chain nucleic acid. Since this reaction takes place in case where the nucleic acid sequence in concern is present in the specimen nucleic acid, the presence or absence of the nucleic acid sequence in concern



can be confirmed by the occurrence or non-occurrence of this reaction. Meanwhile, to cause this reaction to proceed, it is preferred to adopt the method of amplifying a single-chain nucleic acid such as asymmetric PRC, etc. in combination.

[0018]

If an intercalator such as cyber green, etc., which excites fluorescent light when nucleic acid forms a double chain, is incorporated in the PCR reaction solution or the buffer solution, a fluorescent light with a specific wavelength is emitted when fluorescent light is irradiated from the bottom of the analyzing chip. In such a case, the presence of nucleic acid is finally confirmed by the detection of this excited fluorescence, whereby, if a number of probes are fixed to the electrophoresis groove, it becomes possible to judge the shapes and properties of a gene based on the positional information of the fluorescence from diversified viewpoints.

[0019]

#### [EXAMPLES]

A schematic diagram is shown in Fig. 2. The results of judging blood group judgment by using a blood group-judging chip and the PCR reaction solution shown in Table 1 charged in the PCR tank in Fig. 1 are shown in Figs. 3 to 5. By way of precaution, the illustrated method is just one use example, and the application of the present invention is not limited to the illustrated one at all.

[0020]

[TABLE 1]

Prescription for PCR reaction solution	Prescribed quantity
Sterilized distilled water	46 $\mu$ l
10 x PCR buffer solution	10 $\mu$ l
dNTP (10 mM)	8 $\mu$ l
25 mM magnesium chloride	6 $\mu$ l
Primer 1 (10 pmol/ $\mu$ l)	2 $\mu$ l
Primer 2 (10 pmol/ $\mu$ l)	2 $\mu$ l
Taq DNA polymerase (5 U/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
Total	75 $\mu$ l

[0021]

The results obtained by using the blood group-judging chip shown in Fig. 2 are given. Fig. 3 is a judgment example for the case of AO-Rh(+) group; Fig. 4 is a judgment example for the case of BB-Rh(+) group; and Fig. 5 is a judgment example for the case of O-Rh(+) group. In all these examples, the results were the same as those judged by the ordinary blood group judging method.

[0022]

#### [ADVANTAGE OF THE INVENTION]

The present invention relates to a chip for protein/nucleic acid analysis comprising functional parts in which a series of operational steps required for detecting a nucleic acid in concern from a specimen are continuously configured on one surface of a solid, planar, surface-workable piece such as a glass or silicon plate. And, since the analytical operations can be continuously practiced on the chip with the use of the chip, the chip makes it possible to efficiently and economically conduct nucleic acid inspection, which conventionally used comparatively large-size apparatuses and peripheral ones in most cases and has been inevitably blamed as an inefficient and uneconomical method by taking into account the extremely small amount of the specimen.

**[BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS]**

**[Fig. 1]**

**Fig. 1 is a schematic, entire view of a chip for protein/nucleic acid analysis analysis.**

**[Fig. 2]**

**Fig. 2 is a schematic view of a blood group judgment chip.**

**[Fig. 3]**

**Fig. 3 shows a judgment example of AO-Rh(+) group.**

**[Fig. 4]**

**Fig. 4 shows a judgment example of BB-Rh(+) group.**

**[Fig. 5]**

**Fig. 5 shows a judgment example of O-Rh(-) group.**

FIG 1

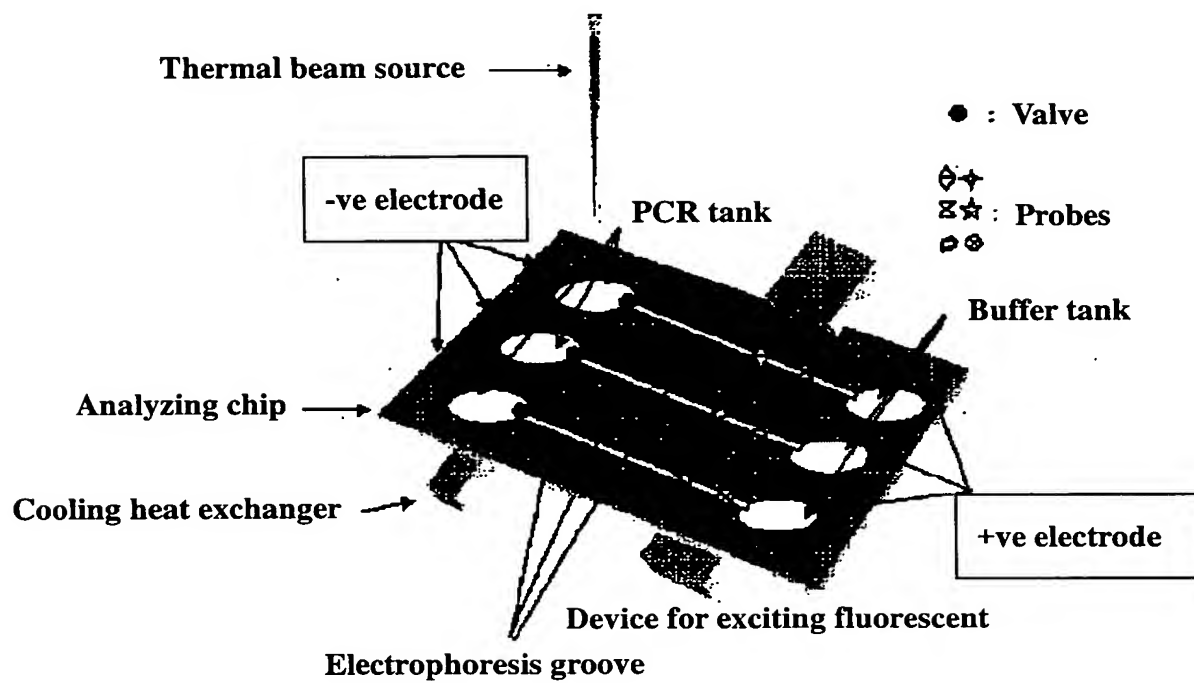
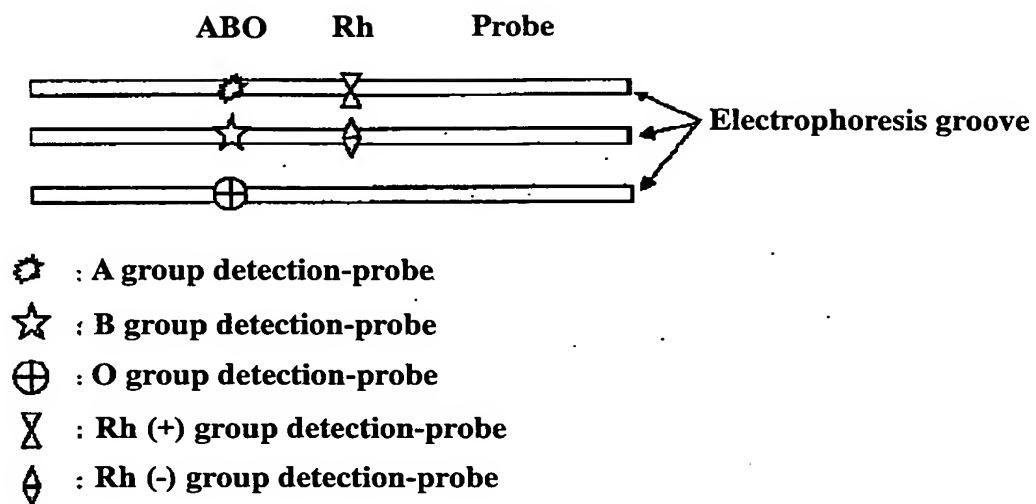
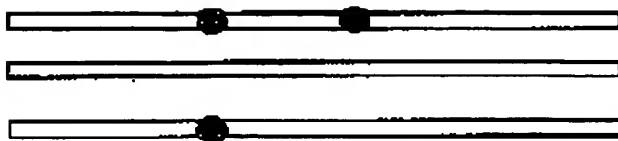


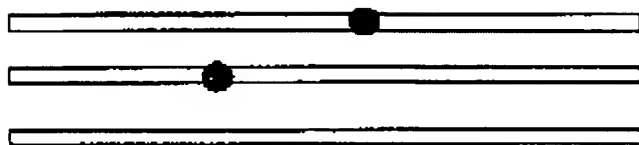
FIG 2



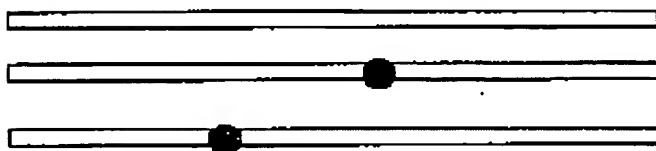
**FIG 3**



**FIG 4**



**FIG 5**





(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-83965

(P2003-83965A)

(43) 公開日 平成15年3月19日 (2003.3.19)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	ターミナル (参考)
G 0 1 N 33/53		G 0 1 N 33/53	M 4 B 0 2 4
			D 4 B 0 2 9
C 1 2 M 1/00		C 1 2 M 1/00	A 4 B 0 6 3
C 1 2 N 15/09		C 1 2 Q 1/68	A
C 1 2 Q 1/68		G 0 1 N 37/00	1 0 2
審査請求 未請求 請求項の数 9 書面 (全 5 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願2001-317402(P2001-317402)

(22) 出願日 平成13年9月10日 (2001.9.10)

(71) 出願人 301079187

株式会社アドジーン

埼玉県熊谷市久保島1785-2

(72) 発明者 大島 譲二

埼玉県熊谷市久保島1785-2

Fターム (参考) 4B024 AA11 CA01 CA11 HA14

4B029 AA07 BB20 CC03 FA01

4B063 QA01 QA18 QQ42 QQ52 QR08

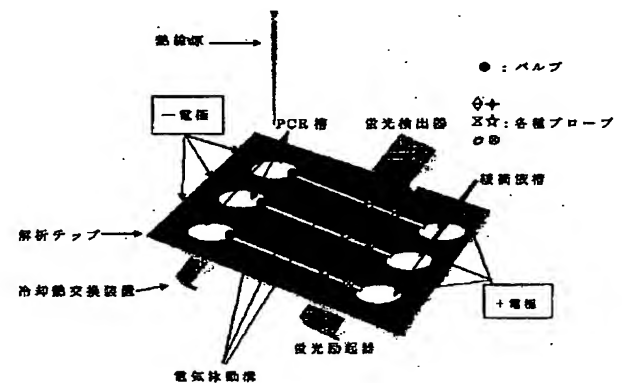
QR32 QR55 QR82 QS25 QS34

(54) 【発明の名称】 蛋白・核酸解析用チップ

(57) 【要約】

【課題】 検体から核酸を抽出して蛋白・核酸を解析する手段として、PCR法等が知られているが解析には比較的大型の機器及び周辺機材が必要であり、検体試料が極少量であることから考えて非効率的、かつ非経済的であった。本発明は、効率的で経済的な蛋白・核酸解析チップを提供することにある。

【解決手段】 ガラス板、シリコン板等の加工可能な固形板状片の一面に微細な窪み、溝等の形状を構築して機能部品化し、該部品を使用して核酸増幅から検定に至る一連の操作工程を連続して短時間に行える解析チップとすることによって課題を解決した。



## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 加工可能な固形板状片の表面に微細な窪みや溝等の形状を構築して該形状を機能化して部品とし、それを使用して蛋白・核酸解析に必要な単数あるいは複数の操作工程を同時あるいは逐次遂行する多機能性を有することを特徴とする蛋白・核酸解析用チップ。

【請求項 2】 蛋白・核酸解析に必要な単数あるいは複数の操作工程を選択あるいは可変させて遂行する多機能性を有することを特徴とする請求項 1 に記載の蛋白・核酸解析用チップ。

【請求項 3】 蛋白・核酸解析に必要な単数あるいは複数の操作工程を選択あるいは可変させる際、各工程間の検体試料の移動をバルブにて遂行する多機能性を有することを特徴とする請求項 1 に記載の蛋白・核酸解析用チップ。

【請求項 4】 上記請求項 3 に記載のバルブの開閉を、温度により形状変化をする材料の特性を利用して行い、該バルブの加温時には検体試料を通過させ、冷却時に遮断する機能を有することを特徴とする蛋白・核酸解析用チップ。

【請求項 5】 上記請求項 4 に記載のバルブの開閉を目的とし、加温法としては熱線源を用いた非接触性で加温する機能、冷却法としては接触性で冷却する機能を有することを特徴とする蛋白・核酸解析用チップ。

【請求項 6】 蛋白・核酸解析に必要な単数あるいは複数の操作工程を選択あるいは可変させて遂行する多機能性を有した解析用チップの内、PCR法を行う機能部品の加温法としては熱線源を用い非接触性で加温する機能、冷却法としては接触性で冷却する機能を有することを特徴とする請求項 1 に記載の蛋白・核酸解析用チップ。

【請求項 7】 蛋白・核酸解析に必要な単数あるいは複数の操作工程を選択あるいは可変させて遂行する多機能性を有した解析チップの内、電気泳動を機能部品に核酸検出用特異的プローブを単数あるいは複数固定し、泳動中の特異的な核酸配列を検出する機能を有することを特徴とする請求項 1 に記載の蛋白・核酸解析用チップ。

【請求項 8】 蛋白・核酸解析に必要な単数あるいは複数の操作工程を選択あるいは可変させて遂行する多機能性を有した解析チップの内、ハイブリダイゼーション緩衝液を充填した溝に核酸検出用特異的プローブを単数あるいは複数固定し、検体試料を注入することにより特異的な核酸配列を検出する機能を有することを特徴とする請求項 1 に記載の蛋白・核酸解析用チップ。

【請求項 9】 蛋白・核酸解析に必要な単数あるいは複数の操作工程を選択あるいは可変させて遂行する多機能性を有した解析チップの内、核酸検出用特異的プローブを単数あるいは複数固定した電気泳動あるいはハイブリダイゼーションを遂行する溝を単数あるいは複数配置し、検出された核酸の位置情報をパターン化し、核酸情

報を判定する機能を有することを特徴とする請求項 7 又は請求項 8 に記載の蛋白・核酸解析用チップ。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、蛋白・核酸解析に必要な工程を効率的で経済的、かつ簡易に行うことを特徴とする蛋白・核酸解析用チップに関する。

## 【0002】

【従来の技術】蛋白・核酸解析には、従来、比較的大型の機器及び周辺機材を利用する場合が多く、通常、蛋白・核酸解析に扱う検体試料が極少量であることを考えると非効率的、かつ非経済的の詬りを免れなかった。

【0003】例えば、核酸増幅に広く用いられている PCR 法の場合、原理的には 1 コピーの遺伝子から解析可能であるが、PCR 機器にはチューブを使用するために試薬容量が必然的に多く必要であり、その結果として核酸量も多くを必要とした。当然、機器を稼働させるための電力消費も増大することになる。

【0004】電気泳動、特にシーケンスの場合などは数十センチのゲル板を用い 3000 ボルトの電圧を必要とするが、1  $\mu$ g 以下の核酸を試料とすることを考えると、このような解析法は非効率的、かつ非経済的と言わざるを得ない。

【0005】上述の欠点を補うために DNA チップやナノシーケンサーを始めとする微細加工技術を用いた新たな核酸検査法が考案され、極少量の検体を効率的、かつ経済的に解析する検査法として開発が進行している。

## 【0006】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、現在までに開発が行われている DNA チップなどの微量検体解析機器は各々が単機能であり、遺伝子解析を総合的、かつ効率的に遂行する機能を有していない。このために一連のステップを経て解析結果を得る遺伝子検には何れかのステップに従来型の機器を利用することとなり、結果的に非効率、かつ非経済的な検査法の域を脱していない。

【0007】例えば PCR 法にて遺伝子解析を行う場合、大きく分けて、①検体からの核酸抽出、②PCR 法による核酸増幅、③核酸増幅産物の電気泳動、④染色による核酸検出、の 4 ステップの工程から成立するが、何れのステップも独立した機器を用い、検体試料を移動させるため連続的な作業を成し得ない。効率的、かつ経済的な検査を行うためには、これら全てのステップを微小化し、更に各ステップに連続性を持たせる必要がある。

## 【0008】

【課題を解決するための手段】係る事情に鑑み、発明者は鋭意研究の結果、これら一連の操作工程を微小化した解析チップ上で連続して行うことにより、その結果として少量の試薬及び検体試料で短時間に一台の小型機器のみで実施する画期的な方法の発明に至った。

【0009】本発明の特徴は、①ガラス板、シリコン板等の表面加工、滅菌処理、洗浄等の操作が可能で、光の透過が可能な固形板状片の一面に微細な窪み、溝等の形状を構築し、②これらの形状を機能化して部品として連続性を持たせ、③各部品には加温又は冷却で開閉するバルブ機構を配置し、④機能部品やバルブの温度変化を加温法としては非接触性加温、冷却法としては接触性冷却を採用して温度制御を行う蛋白・核酸解析チップを設計、製造することにある。

【0010】固形板状片の表面に構築された窪み、溝等の形状を機能化して解析チップとし、該解析チップ上のPCR槽、電気泳動溝、緩衝液槽等の機能部品やバルブを非接触で加温するための熱源としてはレーザー光線、赤外線、遠赤外線などが利用出来るがこれに限定されるものでなく、非接触で短時間に目的部品やバルブだけを加温出来るものであれば何れでも良い。又、目的部品やバルブを接触で速やかに冷却する手段としては二種類の金属又は半導体の接合面を通じて電流を流す時、その接合部に発熱又は吸熱を生じるペルチェ効果を利用した電子機器を冷却熱交換器として使用するのが適切である。

【0011】解析チップ上でバルブの開閉を温度変化によって行うために、ある温度以上に加熱するとマルテンサイト相からオーステナイト相に変態し、変形以前の形状を回復する性質のあるNi-TiやCu-Ti等の形状記憶合金、あるいは外力で造られた一定の変形が熱処理などで失われ、元の形状に戻る性質を持つ形状記憶高分子等が適当である。

【0012】本発明のさらなる特徴は、解析チップに核酸検出用特異的プローブを単数あるいは複数固定することにより目的とする特異的な核酸が各々特定の位置に検出され、その位置パターンから核酸の性状を容易に推定することを可能とすることである。

【0013】

【発明の実施の形態】本発明の原理の一例を図で説明すれば以下の様になる。尚、本例は、PCR、電気泳動、ハイブリダイゼーション、蛍光核酸検出をシングルチップで遂行する方法について例示するものであるが、本発明はこれに限定されるものではない。

【0014】図1において、先ず検体試料（核酸）を解析チップ上に構築されたPCR槽にPCR反応液と共に注入する。この槽は、上部に設置された熱線源で非接触に加温され、下部に設置されている冷却時以外は非接触

となる冷却熱交換器にて冷却される。PCR槽中の検体試料は、適当な加温-冷却の繰り返しによりPCR反応が進行し、核酸が増幅される。

【0015】PCR反応終了後、熱線源がPCR槽に取り付けられたバルブを加熱することによりバルブが開き、PCR槽中の増幅された核酸産物は電気泳動溝への移動が可能となる。該バルブは、加温することによって変形する形状記憶合金や形状記憶高分子物質からなり、加温されることによって変形して核酸産物を通過させる。

【0016】バルブの通過が可能となった後、電極へ通電するとPCR槽から核酸は電気泳動溝を通り、緩衝液槽へ移動を始める。電気泳動溝には、あらかじめ寒天あるいは高分子化合物を充填しておくことが出来るが、その他の抵抗物質でも良い。これらの抵抗物質によりPCR反応液中に存在する蛋白等の不純物が電気泳動中に分離される。又、電気泳動溝は緩衝液で満たしておくことが出来る。

【0017】核酸が電気泳動溝を移動中、この溝にあらかじめ固定された核酸検出用プローブとハイブリダイズ反応を起こすと、これに捕らえられ二本鎖核酸を形成するが、この反応は検体核酸中に目的核酸配列が存在した場合に起こるため、該反応の有無で目的核酸配列の有無を確認することが出来る。尚、この反応を起こさせるためには非対称PCR等、一本鎖核酸を増幅する方法との併用が望ましい。

【0018】核酸が二本鎖を形成した際に蛍光を励起する、サイバークリーン等のインターカレーターをPCR反応液、あるいは緩衝液に混在しておく解析チップ下部から蛍光を当てた場合に特定の波長の蛍光を発する。この励起蛍光を検出することで最終的に核酸の存在を確認するが、何種類かのプローブを電気泳動溝に固定しておく、蛍光の位置情報から遺伝子の性状を多角的にパターンで判定することが可能である。

【0019】

【実施例】図2に概念図を示した、血液型判定チップを用いて、表1に示すPCR反応液を図1のPCR槽に入れて血液型を判定した結果を図3～図5に示す。尚、この使い方は一例であり、本発明の用途はこれに限定されるものではない。

【0020】

【表1】

5

6

PCR反応液処方	処分量
滅菌蒸留水	46 $\mu$ l
10 x PCR緩衝液	10 $\mu$ l
dNTP (10 mM)	8 $\mu$ l
25 mM塩化マグネシウム	6 $\mu$ l
プライマー1 (10 pモル/ $\mu$ l)	2 $\mu$ l
プライマー2 (10 pモル/ $\mu$ l)	2 $\mu$ l
Taq DNAポリメラーゼ (5 U/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
合 計	75 $\mu$ l

【0021】図2に示した血液型判定チップを使用して得られた結果を示す。図3はAO型Rh (+) の場合の判定例、図4はBB型Rh (+) の判定例、図5はO型Rh (-) の判定例であるが、何れの場合にも通常の血液型判定方法で判定した結果と同じ判定を示した。

【0022】

【発明の効果】本発明は、検体試料から目的核酸を抽出して検出するまでの一連の操作工程をガラス板、シリコン板等の表面加工が可能な固形板状片の一面に連続して構築された機能部品からなる蛋白・核酸解析チップに関するものであり、該チップを使用することによって解析操作を連続してチップ上で行うことが出来るので、従

来、比較的大型の機器及び周辺機材を利用する場合が多く、通常、蛋白・核酸解析に扱う検体試料が極少量であることを考えると非効率的、かつ非経済的の排りを免れ検体試料が極少量であることを考えると非効率的、かつ非経済的の排りを免れなかった核酸検査を効率的、かつ経済的に行うことを可能とする。

【図面の簡単な説明】

【図1】蛋白・核酸解析チップ全体の概念図である。

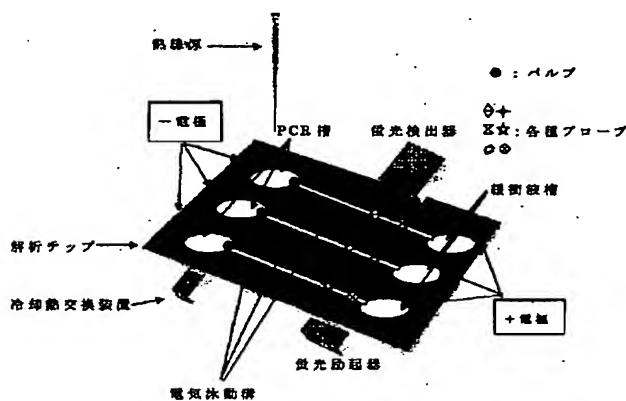
【図2】血液型判定チップの概念図である。

【図3】AO型Rh (+) 型の場合の判定例である。

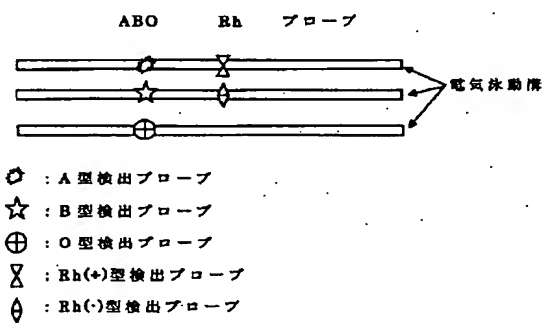
【図4】BB型Rh (+) 型の場合の判定例である。

【図5】O型Rh (-) 型の場合の判定例である。

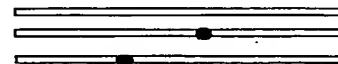
【図1】



【図2】



【図5】



【図3】



【図4】



フロントページの続き

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>

G 0 1 N 37/00

識別記号

1 0 2

F I

C 1 2 N 15/00

テ-マコード (参考)

F